

# 2022 年度 糖鎖生命科学連携ネットワーク型拠点 (J-GlycoNet)

## 共同研究報告

### 【趣旨】

この度、東海国立大学機構 糖鎖生命コア研究所、自然科学研究機構 生命創成探究センター、創価大学 糖鎖生命システム融合研究所は、共同利用・共同研究拠点「糖鎖生命科学連携ネットワーク型拠点」として認定されました。

動物にも植物にも微生物にも、その命を支える3つの分子の鎖があります。ゲノム(核酸)、タンパク質、糖鎖です。しかしながら糖鎖の浸透は社会的にも学術的にもゲノム、タンパク質に比べて圧倒的に浅く、他分野の研究者には糖鎖の壁を避けて通らざるを得ない状況が続きました。その糖鎖の壁に扉を開けて、多分野融合研究を推進し、新しい生命科学を拓こう、というのが本拠点のビジョンです。

つきましては、本拠点の受入教員との間で、拠点の研究リソース、ノウハウ、最先端設備を利用した糖鎖共同研究を以下の要領で公募します。

上記趣旨のもと、2022年度糖鎖生命科学連携ネットワーク型拠点は5月15日～31日までの1次募集、9月1日～9月30日までの2次募集を行い、支援型糖鎖研究(探索型)に29件の応募、課題融合型研究に7件の応募があった。厳正な審査によって、支援型糖鎖研究(探索型)28件、課題融合型研究3件を採択した。

## 1. 「課題融合型研究」報告

### = 課題融合型研究について =

拠点で設定した下記課題研究を公募して行う先進的糖鎖融合研究。研究者(申請者)とネットワーク内の3施設による合同の研究チームを編成し、糖鎖との融合による多様な生命科学の新分野創出を目指した研究を推進する(1~3年(年度ごと継続審査有))で行う研究。(共同研究費400万円)。

### (令和4年度 課題)

#### 課題1 「糖鎖が関与する疾患の分子機構の研究」

ヒト疾病のモデル細胞、モデル動物等における各種糖鎖構造解析、糖鎖代謝解析、糖鎖動態、糖鎖情報解析、ないし臨床検体を対象にした上記糖鎖関連研究を対象とする。これまでの病態発症の分子機構の概念、診断・予防法に「糖鎖」の知見を加えることで疾患発症分子機構の理解を飛躍的に増大させることが期待できる研究課題を広く公募する。

#### 課題2 「多様な生物種における糖鎖関連分子に関する研究」

動物、植物、微生物を含む様々な生物種における糖鎖構造や糖鎖合成機構の解析に関する研究、ないし糖鎖認識分子（レクチン、毒素など）の糖鎖認識機構・細胞内動態・機能に関する研究、糖鎖相互作用分子や阻害分子の相互作用パラメータ解析等を対象とする。生物多様性・糖鎖多様性の理解や糖鎖応用利用の革新が期待できる研究課題を広く公募する。

### 課題3 「糖鎖研究のための新技術開発」

従来の糖鎖解析手法は高速液体クロマトグラフィーや質量分析法などの物理化学的な分離現象を基盤とする計測技術で成り立っているが、糖鎖科学の飛躍的発展には新たな原理・現象に根差した糖鎖や糖鎖関連分子の技術革新が必要である。複雑な糖鎖や糖鎖複合体の解析を主眼とした分離・分析・解析システム（インフォマティクスを含む）の斬新なアイデアによる研究課題を広く公募する

#### 【2022年度 課題融合型研究報告書】

採択番号	融 - 1
------	-------

## 日本人におけるシグレックファミリー遺伝子多型と疾患発症リスクを含む表現型の相関解析

研究代表者：

井ノ口 仁一（大阪大学・大学院理学研究科・フォアフロント研究センター(FRC)・特任教授）

参画研究者：

稲森 啓一郎（東北医科薬科大学・分子生体膜研究所・機能病態分子学教室・准教授）

山口 芳樹（東北医科薬科大学・分子生体膜研究所・糖鎖構造生物学教室・教授）

木下 賢吾（東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・教授）

城田 松之（東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・講師）

田高 周（東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教）

西原 祥子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・所長・教授）

木下 聖子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・副所長・教授）

姆谷内 晶（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授）

佐藤 ちひろ（東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点 iGMED・センター長・教授）

羽根 正弥（東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点 iGMED・助教）

石田 秀治（東海国立大学機構岐阜大学・糖鎖生命コア研究拠点 iGMOL・教授）

古川潤一（東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点・特任教授）

矢木 宏和（自然科学研究機構・生命創成探究センター・客員准教授）

受入研究者：

西原 祥子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・所長・教授）

## 【要旨】

東北メディカル・メガバンク機構（ToMMo）の公開した最新の全ゲノムデータベース(38KJPN)を用いて、シアル酸結合タンパク質であるシグレックファミリー（SIGLEC1～16）の多型の中で、日本人に集積している多型を同定し、疾患発症リスクとの相関解析を行なった。その結果、gnomADのアレル頻度より100倍以上高い7多型、多型ホモ接合体の出現率が理論値に反し0であった2多型、逆に出現率が8倍以上高い1多型を抽出した。さらに、多型ホモ接合体の疾患罹患リスク比が参照ホモ接合体の罹患率より2倍以上高い5多型を見出した。SIGLEC16に関しては、活性型SIGLEC16と不活性型SIGLEC16P（ホモ、ヘテロ）を同定し、表現型との相関を調査中である。

採択番号	融 - 4
------	-------

## 糖鎖の構造研究のための安定同位体技術の開発

研究代表者：武村 政春（東京理科大学・教養教育研究院・教授）

参画研究者：

谷中 冴子（自然科学研究機構・生命創成探究センター（ExCELLS）・准教授（兼任））

矢木 宏和（自然科学研究機構・ExCELLS・客員准教授）

中嶋 和紀（東海国立大学機構岐阜大学・糖鎖生命コア研究拠点（iGCORE）・准教授）

安藤 弘宗（東海国立大学機構岐阜大学・iGCORE・教授）

田中 秀則（東海国立大学機構岐阜大学・iGCORE・助教）

木下 フローラ 聖子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授）

矢木 真穂（名古屋市立大学・大学院薬学研究科・講師）

シム ジンボ（名古屋市立大学・大学院薬学研究科・博士課程学生）

受入研究者：加藤 晃一（自然科学研究機構・ExCELLS・教授）

## 【要旨】

糖鎖は、核酸やタンパク質には見られない複雑な構造を有しており、シーケンス解析や立体構造解析が困難である。こうした解析には、安定同位体を用いた核磁気共鳴（NMR）法が有用であるが、現在の標識技術は、適応できる生物種が限られている。そこで本研究では、多様な生物種に由来する糖鎖を研究するための新しい安定同位体標識技術の開発を目指す。本年度は、アカントアメーバを宿主として増殖する巨大ウイルスの糖鎖の代謝標識を試み、その第一歩として、 $[^{13}\text{C}]$ グルコースを唯一の炭素源とする最少培地中でアカントアメーバを培養できる条件を確立することに成功した。

## 糖脂質異常症の遺伝子変異を基点とする糖鎖合成酵素の構造と機能調節機構

研究代表者：古川 鋼一（中部大学・特定教授）

参画研究者：大海 雄介（中部大学・生命健康科学部・助教）

古川 圭子（中部大学・生命健康科学部・教授）,

田島 織絵（中部大学・生命健康科学部・准教授）

金子 慶（中部大学・生命健康科学部・助手）・

安藤 弘宗（岐阜大 iGCORE・教授）

矢木 宏和（自然科学研究機構(ExCELLS)・特任准教授）

梅谷 内晶（創価大学・GalSIC・教授）

受入研究者：北島 健（名古屋大学・iGCORE・教授）

### 【要旨】

既報の SPG26 の 11 症例、共同研究で解析中の B4GALNT1 変異例 2 種、新たな B4GALNT1 変異例 1 種について、cDNA 発現ベクターの構築と培養細胞での発現により、導入細胞膜上での糖脂質の発現消失/低下、分子量及び多量体形成の異常、発現酵素の細胞内分布とくに Golgi 局在の異常、in vitro での GM2 合成活性の消失/低下等が示された。糖転移酵素遺伝子の変異がどのように多量体形成の異常や細胞内局在の異常を招くのか、その分子病態につき検討を進めている。

## 2. 「支援型糖鎖共同研究（探索型）」報告

### = 支援型糖鎖共同研究（探索型）について =

糖鎖が関わる幅広いテーマの研究を公募して行う共同研究。生命科学および周辺分野を中心に多様な研究の発展に寄与する共同研究を推進します（3～12 カ月間の短期で実施する萌芽的研究。共同研究費～30 万）。

### 【2022 年度 支援型糖鎖共同研究報告書】

採択番号	支 - 1
------	-------

### 糖結合性ペプチドの鏡像体合成と活性評価

研究代表者：入江一浩（京都大学・農学研究科・教授）

受入研究者：中川 優（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・准教授）

#### 【要旨】

自然界には鏡像関係に近い糖の組み合わせが存在し、特定の糖に結合するペプチドの鏡像体が別の糖を認識する分子として機能する可能性がある。本研究では、L-fucose に結合する odorranalectin（17 残基）および複数の糖を認識する SHL-1（32 残基）の鏡像体を本仮説の検証候補とし、両ペプチドの合成法を確立するとともに、生体内糖鎖の部分構造に対応するオリゴ糖を調製することで鏡像体ペプチドの合成と糖結合活性評価を行うための基盤を固めた。

採択番号	支 - 2
------	-------

### 脂肪分解を制御するシアル酸誘導体の探索

研究代表者：根岸 文子（帝京大学薬学部基礎生物学研究室・准教授）

受入研究者：今村 彰宏（岐阜大学応用生物科学部・准教授）

#### 【要旨】

糖鎖分解酵素シアリダーゼ（NEU1）は、脂肪組織においてアディポカインの分泌と脂肪分解を調節し、NEU1 発現の異常は肥満の病態に関連する。申請者は、NEU1 に特異的なシアリダーゼ阻害物質 C9-BA-DANA を用いて、脂肪分解における NEU1 のシアリダーゼ活性および糖鎖修飾の重要性を明らかにする目的で解析を行った。その結果、C9-BA-DANA を  $\beta$  アドレナリン刺激の前処置あるいは同時処理した場合に、培地中のグリセロール量と脂肪滴表面タンパク質発現に増加傾向

がみられた。以上のことから、NEU1 による脂肪分解調節に NEU1 のシアリダーゼ活性が関与する可能性が示唆された。

採択番号	支 - 3
------	-------

## 糖修飾セスキテルペンの合成及び生物活性評価

研究代表者：山口 英士（岐阜薬科大学・薬学部・講師）

参画研究者：平島 一輝（岐阜大学・大学院連合創薬医療情報研究科・G-YLC 特任助教）

受入研究者：岡 夏央（岐阜大学・工学部・准教授）

### 【要旨】

本研究は、糖修飾セスキテルペンの合成、及び生物活性の評価を目的としたものである。山口グループでは、セスキテルペンの新規化学合成法の開発に取り組み、安価な出発物質から短工程で合成できる新しい手法の開発に成功した。岡グループでは、修飾セスキテルペンの新規な合成法を開発した。平島グループでは、修飾セスキテルペンの生物活性を評価し、活性が十分維持されていることを確認した。

採択番号	支 - 4
------	-------

## 新規硬組織関連タンパク質 SPARCL1 の糖鎖構造解析とその改変に基づく歯周組織維持機構の解明

研究代表者：岩山 智明（大阪大学・歯学研究科・助教）

受入研究者：近藤 裕史（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・講師）

### 【要旨】

歯の表面を覆う硬組織である「セメント質」は歯を健康に維持するために重要であるが、その維持機構は不明である。最近「セメント質」の形成細胞であるセメント芽細胞に高発現する分子として SPARCL1 を同定した。本研究では硬組織形成条件で SPARCL1 の発現が増加することや、SPARCL1 が N 型糖鎖修飾を受けていることを明らかとした。SPARCL1 が硬組織形成を促進しており、糖鎖の違いによる SPARCL1 の機能制御の可能性が示唆された。

採択番号	支 - 5
------	-------

## 植物スフィンゴ糖脂質の加水分解を起点とする細胞シグナルに関する研究

研究代表者：田中 保（徳島大学・大学院社会産業理工学研究部・教授）

参画研究者：石川 寿樹（埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授）

受入研究者：田中 秀則（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・助教）

### 【要旨】

植物において、最も豊富なスフィンゴ糖脂質は糖鎖がリン酸イノシトールを介してセラミドに結合したグリコシルイノシトールホスホセラミド(GIPC)である。本年度の研究により、GIPC のイノシトールグリカン部分のマンノース- $\alpha$ (1,4)-グルクロン酸- $\alpha$ (1,2)-イノシトールの化学合成に成功した。これを標準品に用い、GIPC 特異的ホスホリパーゼ D の分解産物の構造を解析した結果、この酵素が確かに GIPC から糖鎖の切り出しを担っていることが確認された。

採択番号	支 - 6
------	-------

## 糖ペプチド濃縮の迅速化を促す高保持性新 HILIC 磁性ビーズの開発

研究代表者：池上 亨（京都工芸繊維大学・分子化学系・准教授）

受入研究者：中嶋 和紀（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・准教授）

### 【要旨】

質量分析を基軸とした糖ペプチド解析は、疾患バイオマーカーの強力なアプローチである。しかしながら、本作業過程には糖タンパク質抽出やプロテアーゼ消化、糖ペプチドの濃縮、測定などに多くの時間を要するため多検体分析には対応していないのが現状である。このような背景のもと、我々は親水性相互作用クロマトグラフィーによる糖ペプチド濃縮の迅速化を促すため、テトラゾール基を化学修飾した磁性ビーズを調製し、糖ペプチドや他の糖鎖関連分子を用いて性能評価を行った。

採択番号	支 - 7
------	-------

## 腸内細菌由来レクチンと生体防御分子 GP2 の糖鎖との相互作用解析

研究代表者：西尾 俊亮（福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任助教）

参画研究者：松田 幹（福島大学・食農学類・教授）

受入研究者：羽根 正弥（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・助教）

### 【要旨】

炎症性腸疾患の原因となりうる粘膜バリアの機能破綻は、膵臓からの Glycoprotein 2 (GP2) の分泌を促す。GP2 は、線毛タンパク質 FimH と結合することで、腸内細菌の定着と炎症亢進を抑制する。FimH はレクチン活性を持ち、GP2 の N 結合型糖鎖と結合すると想定されるが、GP2 の糖鎖構造と結合活性との関連は報告されていない。本研究では、GP2 および FimH レクチンドメインの組換えタンパク質を調製し、バイオレイヤー干渉法を用いた結合評価系の構築を行った。

採択番号	支 - 8
------	-------

## 小脳オルガノイドにおける硫酸化 GAG の機能解析

研究代表者：平野 和己（産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・主任研究員）

参画研究者：伊藤 和義（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・講師）

小倉 千佳（創価大学・理工学部・助教）

受入研究者：西原 祥子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授、所長）

### 【要旨】

小脳での運動学習機構の基盤を成すプルキンエ細胞(PC)は、小脳皮質の中で最も早く分化する神経細胞であり、様々な細胞外シグナル因子が PC の層形成深く関与する。シグナルリガンドと各受容体との結合に、硫酸化グリコサミノグリカン (GAG) が共受容体として働くことから、小脳の発生において硫酸化 GAG が重要な役割を果たしていることが予想される。本課題では、小脳オルガノイドを用いて in vitro でヒトの小脳発生における硫酸化 GAG の役割を解明する

採択番号	支 - 9
------	-------

## 構造解析による植物成長鍵因子における糖鎖の機能解析

研究代表者：吉田 英樹（福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任助教）

参画研究者：松岡 信（福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任教授）

松田 幹（福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・教授）

西尾 俊亮（福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任助教）

受入研究者：佐藤 ちひろ（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・教授）

### 【要旨】

植物ホルモンの 1 つであるジベレリンは多様な発達過程の制御を司っており、その生理作用は

DELLA タンパク質と呼ばれる植物固有の転写因子様タンパク質によって抑制されていることが知られている。DELLA は O-fucosylation や O-GlcNAcylation といった糖鎖修飾を受けることがモデル植物であるシロイヌナズナにおいて報告されているが、それ以外の植物での解析はまだ進んでいない。そこで本研究ではイネの DELLA タンパク質の糖鎖修飾を介した成長制御機構を明らかにすることを目的に研究を行う。

採択番号	支 - 10
------	--------

## 免疫受容体の O-GlcNAc 修飾解析

研究代表者：長江 雅倫（大阪大学・微生物病研究所・助教）

参画研究者：岡島 徹也（名古屋大学・医学系研究科・教授）

受入研究者：田嶋 優子（名古屋大学・医学系研究科・講師）

### 【要旨】

本支援研究の目的は、免疫受容体における O-GlcNAc 修飾を生化学的・構造生物学的に解析することである。そこでまず O-GlcNAc 修飾の糖転移酵素である EOGT の反応メカニズムおよび基質認識機構に着目した。そこで名古屋大学医学系研究科の田嶋優子博士に依頼し、EOGT 蛋白質について HEK293 細胞の安定発現株を構築していただき、カラムクロマトグラフィーによってリコンビナントの EOGT 蛋白質を高純度に調製していただいた。得られた精製蛋白質は様々な免疫受容体と基質存在下で混合して修飾解析や酵素学的解析に用いる予定である。

採択番号	支 - 11
------	--------

## 抗体の糖鎖構造と細胞侵入能の構造活性相関研究

研究代表者：眞鍋 史乃（星薬科大学・薬学部・教授）

参画研究者：Methanee Hiranyakorn（星薬科大学・薬学部・特任助教）

伊藤 和義（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・講師）

受入研究者：西原 祥子（創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授）

### 【要旨】

糖鎖構造は、タンパク質の動態に影響を及ぼすが、厳密に構造が規定された糖タンパク質の入手が難しいため、現時点でも明確な構造活性相関は得られていない。糖鎖構造を均一化した抗体の細胞内への取り込みを測定し、糖鎖が抗体の細胞表面への結合やそれ以降の細胞内への取り込みに及ぼす影響の相関を明らかにすることを目的とする。今年度は、糖鎖構造均一抗体の作製と蛍光標識、

それを用いたイメージング解析を行った。

採択番号	支 - 12
------	--------

## 集合状態変化に依存して色調変化を示す糖脂質型超分子ヒドロゲルの開発～糖残基の立体異性とゲル形成能との関係性の精査～

研究代表者：越智 里香（高知大学・教育研究部・助教）

受入研究者：池田 将（岐阜大学・工学部・教授）

### 【要旨】

超分子ヒドロゲルとは、両親媒性分子（ゲル化剤）が水中で分子間力により集合することで形成されるゲル状物質であり、機能性材料として注目されている。本研究では、熱や糖加水分解酵素などの外部刺激に応答して色調変化を示す糖脂質型超分子ヒドロゲルの開発を目的とした。この際、ゲル化剤分子中に導入した糖残基の立体異性がゲル形成能や分子集合体の形態に与える影響を精査し、ゲル化剤の構成成分としての糖残基の有用性を示すことを目指した。

採択番号	支 - 13
------	--------

## 酵母 $\alpha$ マンナン由来抗炎症性分子と C 型レクチン受容体 DC-SIGN の相互作用解析

研究代表者：戸田 雅子（東北大学大学院・農学研究科・教授）

参画研究者：松田 幹（福島大学・食農学類・教授）

西尾 俊亮（福島大学・食農学類・特任助教）

受入研究者：北島 健（名古屋大学大学院・生命農学研究科・教授）

### 【要旨】

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 由来  $\alpha$  マンナンは、免疫調整素材として着目されている。我々は  $\alpha$  マンナンの機能発現の要となる「樹状細胞における抗炎症性サイトカイン IL-10 産生増強」の機序解明を目指している。これまでに  $\alpha$  マンナンの受容体として、DC-SIGN や Dectin-2 が同定されている。本研究ではシグナル伝達経路の解析から、DC-SIGN よりもむしろ Dectin-2 を介した PI3K-Akt-mTOR 経路の活性化が IL-10 産生増強に関与することを明らかにした。本研究で得られた知見は、 $\alpha$  マンナンを用いる抗炎症・抗アレルギー戦略の確立に貢献すると期待される。

採択番号	支 - 14
------	--------

## 極性誘導分泌性糖タンパク質 Wnt の膜結合と局在の蛍光 1 分子評価

研究代表者：森垣 憲一（神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・准教授）

参画研究者：鈴木 健一（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授）

廣澤 幸一郎（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・研究員）

杉町 純音（神戸大学・農学研究科・博士前期課程 2 年生）

吉村 優（神戸大学・農学研究科・博士前期課程 1 年生）

受入研究者：笠井 倫志（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・特任准教授）

### 【要旨】

分泌性タンパク質 Wnt（ウィント）は、細胞の極性形成を誘導する重要なシグナル分子であり、個体発生や神経回路の維持に重要な細胞間コミュニケーションを司る。本研究ではパターン化人工膜と蛍光 1 分子観察技術を用いて、Wnt の膜への結合、局在を定量する。多様な脂質組成の効果を調べ、糖鎖が Wnt の基礎分子物性に果たす役割を明らかにし、細胞間シグナル経路を分子レベルで理解するための基礎情報を得る。

採択番号	支 - 15
------	--------

## 糖ペプチド濃縮の迅速化を促す高保持性新 HILIC 磁性ビーズの開発

研究代表者：池上 亨（京都工芸繊維大学・分子化学系・准教授）

受入研究者：中嶋 和紀（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・准教授）

### 【要旨】

質量分析を基軸とした糖ペプチド解析は、疾患バイオマーカーの強力なアプローチである。しかしながら、本作業過程には糖タンパク質抽出やプロテアーゼ消化、糖ペプチドの濃縮、測定などに多くの時間を要するため多検体分析には対応していないのが現状である。このような背景のもと、我々は親水性相互作用クロマトグラフィーによる糖ペプチド濃縮の迅速化を促すため、テトラゾール基を化学修飾した磁性ビーズを調製し、糖ペプチドや他の糖鎖関連分子を用いて性能評価を行った。

採択番号	支 - 16
------	--------

## GPI アンカーを介した真菌型ガラクトマンナンの細胞表層輸送機構の解明

研究代表者：岡 拓二（崇城大学・生物生命学部・教授）

参画研究者：門岡 千尋（崇城大学・生物生命学部・助教）

受入研究者：藤田 盛久（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授）

### 【要旨】

糸状菌の細胞壁構成糖鎖の 1 つである真菌型ガラクトマンナン (FTGM) の生合成を阻害すると菌糸生長が著しく低下することから、FTGM の生合成経路が抗真菌薬の標的となることが期待されている。FTGM はゴルジ体で生合成されるが何を受容分子として生合成され、細胞表層へ運ばれているのかということに関しては謎が残されている。本研究では、FTGM が GPI アンカーを介して細胞表層に運ばれることを明らかにすることを目的とする。本年度は、GPI アンカー糖側鎖合成に関わる候補タンパク質について解析を行った。

採択番号	支 - 17
------	--------

## CIRES データベースの構築

研究代表者：竹松 弘（藤田医科大学・医療科学部・教授）

参画研究者：内藤 裕子（藤田医科大学・医療科学部・講師）

受入研究者：木下 聖子（創価大学・理工学部・教授）

### 【要旨】

糖鎖の生物学的意義を明らかにしていく際の障害として、細胞レベルで糖鎖付加はコントロールが難しいことが挙げられる。その原因は、糖鎖生合成に関わる多数の酵素がどう制御されているのか同定しがたい点にある。申請研究では、糖鎖生合成を経路全体、つまりシステムとして捉え、糖鎖産物の発現量の制御に関わる酵素遺伝子を同定していくために有用な定量的解析手法として考案した CIRES 法を一般にも使用できるよう、データベースとして構築していく。

採択番号	支 - 18
------	--------

## ヒト培養細胞におけるグルコシダーゼ阻害剤存在下でのハイマンノース型糖鎖分析

研究代表者：蜷川 暁（神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・助教）

参画研究者：森 和俊（京都大学・大学院理学研究科・教授）

松尾 将生（神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・学部生）

受入研究者：加藤 晃一（自然科学研究機構・ExCELLS・教授）

矢木 宏和（自然科学研究機構・ExCELLS・客員准教授）

#### 【要旨】

N型糖鎖は小胞体における糖タンパク質の構造形成、分解に密接に関わっている。通常、N型糖鎖のグルコースが切除されてから、次にマンノースが切除され始めることがわかっている。しかし、グルコシダーゼ阻害剤存在下のグルコースが切除されない状態において、N型糖鎖のマンノーストリミングが進むのかわかっていなかったため、これを調べた。その結果、グルコシダーゼ阻害剤存在下においても、グルコースを持たない糖鎖も多く観察され、グルコシダーゼ阻害剤は、強くグルコース切除を抑制しないことがわかった。

採択番号	支 - 19
------	--------

## 海水中に存在する糖鎖の測定

研究代表者：和田 茂樹（筑波大学・下田臨海実験センター・助教）

受入研究者：古川 潤一（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授）

#### 【要旨】

海水中の有機化合物は、生物を介した炭素循環の指標とされており、特に糖は有機物の生産・分解・輸送過程などを示す重要な化合物群である。本研究は、海水中に存在する糖鎖を測定し、炭素循環を駆動する生物過程の解明に取り組む。2022年度は、海水中のバクテリア群集の細胞体と細胞外に放出した有機物の糖鎖解析に取り組んだ。2つの画分は異なる糖鎖の組成を示し、特に細胞外画分には末端にウロン酸を持つ遊離糖鎖が含まれることが示唆された。

採択番号	支 - 20
------	--------

## グリオーマに発現するポリシアル酸の機能構造解析

研究代表者：北爪 しのぶ（福島県立医科大学・保健科学部・教授）

参画研究者：藤井 正純（福島県立医科大学・脳神経外科学講座・教授）

長井 健一郎（福島県立医科大学・脳神経外科学講座・病院助手）

鳴瀬 悠（福島県立医科大学・脳神経外科学講座・専攻医）

受入研究者：佐藤 ちひろ（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・教授）

### 【要旨】

原発性脳腫瘍であるグリオーマの中で最も悪性度の高いグリオブラストーマは平均生存率が2年不足であり、有隣癌と並んで最も予後の悪い腫瘍である。本研究では、申請者らがグリオーマ診断マーカー候補分子として研究を進めてきた膜結合型糖タンパク質 protein tyrosine phosphatase receptor type Z (PTPRZ) (Yamanoi, Y et al. Neuro-Oncology Advances, 10.1093/noajnl/vdaa055, Nagai, K et al. IJMS, in press)、あるいはそれ以外の分子にポリシアル酸が結合しているか、などの探索的研究を進める。

採択番号	支 - 21
------	--------

## 精密超分子重合法を駆使したユニット構造が規定された糖鎖超分子ゲルの合成と機能開拓

研究代表者：佐々木 紀彦（鳥取大学・工学部・助教）

受入研究者：池田 将（岐阜大学・工学部・教授）

### 【要旨】

糖鎖からなる超分子集合体の合成に関する研究は、酵素反応により得られるシクロデキストリンや菌の発酵により生産されるカードランなどの供給源が安定した一部のオリゴ糖を除いて、高純度な合成糖鎖の供給がボトルネックとなり、未開拓領域が数多くある。本研究では液相電解自動合成装置を用いて糖鎖を迅速に合成し、糖鎖をモノマーとする超分子集合体の精密合成法を行う。ユニット構造が規定された糖鎖超分子集合体からなるゲルの合成と機能開拓を目的とする

採択番号	支 - 22
------	--------

## 分岐部分の構造が異なる天然型・非天然型糖鎖の高次構造・運動性の比較

研究代表者：石井 希実（群馬大学 大学院理工学府・分子科学部門・助教）

受入研究者：加藤 晃一（自然科学研究機構・生命創成探究センター(ExCELLS)・教授）

### 【要旨】

核酸、タンパク質は一本鎖なのに対し、糖鎖は複雑な分岐構造を有する。糖鎖はこの分岐構造により創り出される空間と運動性を利用して生命情報を伝えると考えている。そこで糖鎖が分岐構造をもつ意味を明らかにするために、糖鎖分岐部分に点変異を加えた非天然型糖鎖と天然型構造の糖鎖を化学合成した。糖鎖の高次構造や運動性を NMR と MD シミュレーションにより解析、比較した結果、糖鎖分岐部分の点変異が糖鎖の立体構造に影響を与えることが示唆された。

採択番号	支 - 23
------	--------

## 新たな手法を用いた希少糖核酸の合成とその生理活性の探索

研究代表者：塚本 郁子（香川大学・医学部・客員教授）

参画研究者：中北 慎一（香川大学・医学部・准教授）

受入研究者：岡 夏央（東海国立大学機構・岐阜大学工学部・准教授）

### 【要旨】

独自に開発した新規ドミノ反応を希少糖の一種であるプシコースに応用することで、プシコース骨格を組み込んだ新規希少糖炭素環ヌクレオシドの合成に成功した。また、新規炭素環ヌクレオシドである COA-CI に、神経モデル細胞に対する酸化ストレス、低栄養ストレスからの防御効果や、インシュリンの分泌促進作用を見出した。

採択番号	支 - 24
------	--------

## 海産無脊椎動物レクチンの比較グライコーム解析

研究代表者：大関 泰裕（浜市立大学大学院・生命ナノシステム科学研究科・教授）

参画研究者：ヤン・ゲラルデル（リール大学・教授）

藤井 佑樹（長崎国際大学大学院・薬学研究科・教授）

小関 準（名古屋大学・医学部・准教授）

山田 雅雄（横浜市立大学大学院・生命ナノシステム科学研究科・客員教授）

石渡 隆也（横浜市立大学・理学部・学生）

高草木 俊（横浜市立大学・理学部・学生）

林 龍平（横浜市立大学・理学部・学生）

吉本 紗菜（横浜市立大学・理学部・学生）

受入研究者：島村 徹平（名古屋大学・医学部・教授）

### 【要旨】

神奈川県と長崎県の沿岸から海産無脊椎動物を採集し、レクチンの認識糖の 1/4 を占めるガラクトース結合性レクチンを精製した。海綿動物、棘皮動物、軟体動物より得たレクチンを、糖鎖アレイで解析し、Tn、T、GM1、LacNAc、ルイス式血液型糖鎖を認識する特徴ある糖鎖結合性を見つけた。その存在と結合性の多様さは、採集地の生物種の豊富さに対応すると考えられた。ここにグライコーム研究の有益な資源が存在することが判明した。

採択番号	支 - 26
------	--------

## 遊離 N-glycan の構造解析法

研究代表者：篠原 康郎（金城学院大学・薬学部・教授）

受入研究者：古川 潤一（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授）

### 【要旨】

代謝経路がよくわかっていないハイブリッド型やコンプレックス型の遊離 N-glycan の研究に取り組むために構造解析法が不可欠であるが、遊離 N-glycan には還元末端に GlcNAc が1つの Gn1型が存在するために構造解析のハードルは N-glycan に比較して著しく上がる。本研究では、構造解析に有用なエキソグリコシダーゼやエンドグリコシダーゼの組み合わせや個々の酵素反応の条件を精査して、構造解析に有効な諸条件を確立した。

採択番号	支 - 27
------	--------

## Identifying the glycan ligands of Severe Fever Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) Virus

Applicant :

Hitoshi Takemae (Senior Assistant Professor, Center for Infectious Diseases Epidemiology and Prevention Research (CEPiR) Tokyo University of Agriculture and Technology)

Participant :

Tetsuya Mizutani (Professor, Center for Infectious Diseases Epidemiology and Prevention Research (CEPiR) Tokyo University of Agriculture and Technology)

Mami Oba (Associate Professor, Center for Infectious Diseases Epidemiology and Prevention Research (CEPiR) Tokyo University of Agriculture and Technology)

Host researcher : Yann Guerardal, Professor, iGCORE Gifu University

### [ Summary ]

To analyze the glycan profiles of Vero9013 cells, a promising model for SFTS virus infection, we have extracted glycosphingolipids, purified glycopeptides, released N-glycans (NG) and O-glycans (OG), permethylated GSL, NG and OG. We observed major neutral GSLs, but also multiple mono- and di-sialylated gangliosides like GM2, GM1 and GD1 as well as mono and di-sialylated globosides series. This is very promising, and we are currently analyzing other glycan families.

採択番号	支 - 28
------	--------

## 新規簡易型糖ペプチド測定法により見出された癌糖ペプチドマーカの検証

研究代表者：山田 佳太（大阪大谷大学・薬学部・講師）

受入研究者：中嶋 和紀（岐阜大学・糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター・准教授）

### 【要旨】

血中タンパク質由来の糖ペプチド解析は、バイオマーカー探索の有用なアプローチの一つである。しかしながら、既存の糖ペプチド解析は、質量分析に依存した測定系であり、定量性や測定感度等に課題があると考えられる。また、高額な設備投資が必要であり、実施できる機関が限定される。このような背景から、本研究では質量分析に依存しない糖ペプチドの定量的且つ簡便な測定技術の開発に取り組んだ。さらに、確立した技術を用いて健常者検体と幾つかのがん患者検体の比較解析を実施し、癌マーカーとなりうる血中由来糖ペプチド成分を探索した。

採択番号	支 - 29
------	--------

## ガングリオシド改変細胞由来 EVs における糖鎖機能の解明

研究代表者：金子 慶（中部大学・生命健康科学部・助手）

受入研究者：近藤 裕史（名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・助教）

### 【要旨】

細胞外分泌小胞(EVs)は、直径 40-150 nm の細胞膜由来の小胞で、細胞間の情報伝達に重要である。悪性メラノーマでは、特有の糖鎖を有したシアル酸含有糖脂質(ガングリオシド)の GD3 や GD2 の高発現が認められ、がん関連抗原として利用されている。

本研究では、ガングリオシド改変メラノーマ細胞由来の細胞外分泌小胞の性状と機能を解析して、細胞外分泌小胞における糖鎖、EV マーカー、脂質ラフトマーカーなどの発現の特徴を明らかにすると共に、その標的細胞への作用解析を行い、興味深い結果を得た。